AND-Kapılı Çok Valflı Bağlayıcılarla Direnç Bariyerini Yükseltme Hipotezi

Araştırma Yol Haritası — v1

Genel Bakış

Bu yol haritası, hipotezi dört ardışık faza böler: (1) hedef protein seçimi, (2) hesaplamalı modelleme, (3) in vitro doğrulama, (4) resmi araştırma önerisi. Her faz sonunda bir 'karar kapısı' (go/no-go kriteri) vardır; kriter sağlanmazsa hipotez o noktada revize edilir veya terk edilir — bir sonraki faza otomatik geçilmez.

Faz	Süre	Ana Çıktı	Karar Kapısı
1	Hafta 1–4	Kriterlere uyan aday hub protein listesi (DepMap + literatür)	≥3 aday var mı?
2	Hafta 5–12	ΔΔG haritası + $P_{kaçış} \approx p^n$ toy-model simülasyonu	Epistazi yok mu?
3	Ay 4–9	Valans–kaçış deneyi + AND-kapı in vitro doğrulama	Terapötik pencere yeterli mi?
4	Ay 9–12	Resmi araştırma önerisi / makale taslağı	Fonlama / yayın hazır mı?

Faz 1 — Hedef Protein Seçimi (Hafta 1–4)

Amaç

Diferansiyel esansiyellik, yapısal daralık ve yol-kesişim kriterlerine uyan aday hub proteinleri belirlemek.

Adımlar

- DepMap / Cancer Dependency Map veri setinden kanser-spesifik esansiyel, sağlıklı dokuda düşük ifadeli genleri filtrele.
- Filtrelenen genleri bilinen bypass/direnç yolları (örn. RTK-RAS, PI3K-AKT çapraz konuşmaları) ile kesiştir.
- Kalan adaylar için PDB'de yapısal veri var mı kontrol et (yapısal daralık analizi için gerekli).
- Her aday için kısa bir 'hedef dosyası' hazırla: esansiyellik skoru, ifade farkı, bilinen mutasyon sıcak noktaları.

Karar Kapısı

En az 3 aday protein, üç kriteri de karşılıyorsa Faz 2'ye geç. Karşılamıyorsa kriterleri gözden geçir (örn. yapısal daralık eşiğini gevşet) veya farklı bir yol ailesine bak.

Faz 2 — Hesaplamalı Modelleme (Hafta 5–12)

Amaç

Seçilen adaylar için ΔΔG haritası çıkarmak ve valans–kaçış ilişkisini ($P_{kaçış} \approx p^n$) toy-model ile test etmek.

Adımlar

- Her aday protein için FoldX veya Rosetta ddG_monomer ile bağlanma bölgesindeki olası tüm nokta mutasyonlarının ΔΔG değerlerini hesapla.
- Epistazi kontrolü: iki veya daha fazla bağlanma bölgesini aynı anda etkileyen tek mutasyon var mı, yapısal olarak tara.
- $P_{kaçış} \approx p^n$ modelini, hesaplanan p (tek bölge direnç mutasyonu olasılığı, ΔΔG dağılımından türetilir) ile simüle et; n=1,2,3 için beklenen kaçış frekansını karşılaştır.
- Simülasyon sonuçlarını, literatürdeki bilinen mono/bivalent inhibitör direnç verileriyle (örn. kinaz inhibitörü vakaları) karşılaştırarak modeli kalibre et.

Karar Kapısı

Epistazi ihmal edilebilir düzeydeyse (bağlanma bölgeleri arasında çapraz-direnç sağlayan ortak mutasyon oranı düşükse) ve simülasyon literatür verileriyle tutarlıysa Faz 3'e geç. Değilse model varsayımlarını (bağımsızlık varsayımı) revize et.

Faz 3 — In Vitro Doğrulama (Ay 4–9)

Amaç

Valans arttıkça kaçış frekansının gerçekten düştüğünü ve AND-kapısının seçiciliğinin yeterli olduğunu hücre kültüründe göstermek.

Adımlar

- 1, 2 ve 3 valanslı bağlayıcı molekülleri sentezle (veya sentez için bir kimya ekibiyle iş birliği kur).
- Seri pasaj deneyi: her valans grubu için dirençli klon ortaya çıkış hızını ve mutasyon frekansını ölç.
- Hasar-pozitif ve hasar-negatif hücre hatlarında AND-kapısı aktivasyon oranını akış sitometrisi ile ölç (hedef: hasar-negatifte <%X sızıntı, hasar-pozitifte >%90 inhibisyon).
- Terapötik pencereyi (hasar-pozitif/hasar-negatif aktivasyon oranı) istatistiksel olarak değerlendir.

Karar Kapısı

Valans-kaçış ilişkisi öngörülen yönde anlamlıysa VE terapötik pencere yeterliyse Faz 4'e geç. Terapötik pencere yetersizse hub protein seçimine (Faz 1) geri dön.

Faz 4 — Resmi Araştırma Önerisi / Yayın (Ay 9–12)

Amaç

Elde edilen verileri fonlama başvurusu veya yayın için resmi bir belgeye dönüştürmek.

Adımlar

- Faz 1–3 sonuçlarını özetleyen bir ön-veri (preliminary data) bölümü yaz.
- Sınırlamaları açıkça belirt: epistazi varsayımı, hedef proteine özgü sonuçların genellenebilirliği, in vivo doğrulamanın henüz yapılmamış olması.
- Sonraki adım olarak in vivo (hayvan modeli) doğrulama planını ekle.

Karar Kapısı

Bağımsız hakem değerlendirmesi veya iç danışma kurulu onayı — bu noktadan sonra in vivo çalışmalara geçilir.

Riskler ve Sınırlamalar

- Epistazi varsayımı yanlışsa (bir mutasyon birden fazla bağlanma bölgesini aynı anda bozabiliyorsa), $P_kaçış \approx p^n$ modeli geçersiz olur — Faz 2'de erken test edilmeli.
- Uygun kriterlere uyan hub protein bulunamayabilir; bu durumda hipotez daraltılarak belirli bir kanser tipine/yoluna özgülleştirilmeli.
- AND-kapısının taban sızıntısı beklenenden yüksek çıkarsa, terapötik pencere yetersiz kalabilir — sinyal eşiği ve prodrug tasarımı yeniden optimize edilmeli.
- Bu yol haritası hesaplamalı ve in vitro aşamaları kapsar; in vivo ve klinik aşamalar bu belgenin kapsamı dışındadır.